

研究成果報告（概要）

1. 研究課題

和文
粒径が精密に制御された脂質ナノ粒子の作製とそのドラッグデリバリーシステムへの応用
英文
Fabrication of lipid nanoparticles with precisely controlled particle size and its application to drug delivery systems

2. 申請者名(代表研究者)

氏名	ローマ字表記
渡慶次 学	Manabu Toksehi
所属大学・機関名	英訳表記
北海道大学	Hokkaido University
研究科専攻名・部課名等	英訳表記
大学院工学研究院・応用化学部門	Division of Applied Chemistry Faculty of Engineering
役職名	英訳表記
教授	Professor

3. 共同研究者（下段 英訳表記）

氏名	所属機関名・研究科等名・役職
(氏名)	
真栄城 正寿	北海道大学・大学院工学研究院応用化学部門・助教
.....
(英訳表記)	(英訳表記)
Masatoshi Maeki	Division of Applied Chemistry, Faculty of Engineering, Hokkaido University Assistant Professor
(氏名)	
.....
(英訳表記)	(英訳表記)

4.研究について

研究目的

薬剤を特定の組織や臓器に必要な量だけ送達するドラッグデリバリーシステム (DDS) のキャリア粒子として、脂質ナノ粒子は最も広く利用されている。現在は、粒径 80~100 nm の脂質ナノ粒子製剤が市販されているが、粒径分布が不均一（粒径分布が広い）であり、ヒトにおいては期待されていたほどの薬効が出ていない。一方で最近の知見では、粒径によって細胞・（がん）組織への薬剤の送達効率が異なることが明らかになっている。そのため、細胞や組織への送達効率が低いと報告されている粒径 30~80 nm の脂質ナノ粒子を精密に制御して作製する技術が切望されている。申請者らは、マイクロ流体デバイスを用いた核酸医薬品のための脂質ナノ粒子作製に関する研究に取り組んできた。ごく最近申請者らは、脂質溶液（脂質/溶媒）の希釈速度が脂質ナノ粒子の形成に大きく影響することを明らかにした（*RSC Adv.*, 2015）。本研究では、脂質ナノ粒子の形成挙動と形成メカニズムを解明し、粒径を精密に制御可能なマイクロ流体デバイスの開発を目的とした。

研究成果

マイクロ流路中にカオティックミキサーを構築したデバイスは、2段階フォトリソグラフィーによって作製した。流路幅は 200 μm とし、ミキサー部の深さが異なる 3 種類のデバイスを作製した（ミキサー深さ：0（ミキサーなし）、11、31 μm ）。図 1 に実験セットアップの概略図を示す。作製したマイクロ流体デバイス（ミキサー深

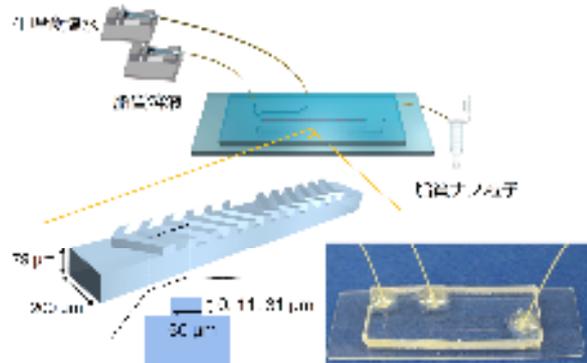


図 1 実験セットアップの概略図

さ：31 μm ）に脂質溶液（POPC：1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine / エタノール）溶液と生理食塩水を送液し、流量条件や脂質濃度が脂質ナノ粒子の形成挙動に与える影響について検討した。POPC の濃度は、5、10、20 mg/mL とした。図 2 に流量 500 $\mu\text{L}/\text{min}$ における原料溶液の脂質濃度と生成する粒子径の関係を示す。脂質濃度に依存せずに原料溶液の生理食塩水流量/脂質溶液流量が大きくなるほど、生成する脂質ナノ粒子の粒径が小さくなった。また、同じ流量条件であっても、脂質溶液の濃度が高いほど粒径が大きくなることが明らかになった。流量条件と脂質濃度によって、脂質ナノ粒子の粒径を 30~70 nm まで制御することが可能であった。

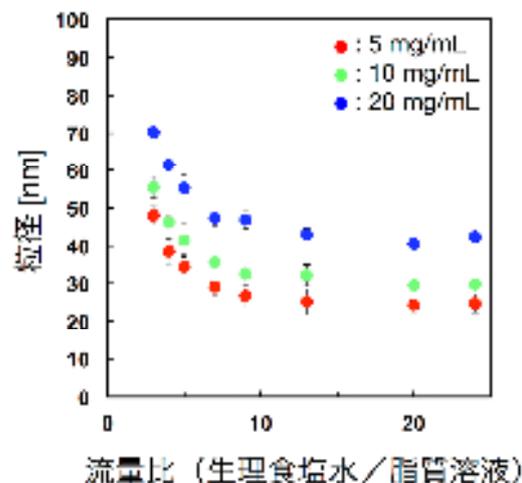


図 2 脂質濃度が生成する粒径に与える影響

次に、ミキサーの深さが異なる 3 種類のデバイスを用いて、溶媒希釈速度が生成する粒径に与える影響の解明に取り組んだ。図 3 に 3 種類のデバイスにおける原料溶液

の流量と生成した粒径の関係を示す（左：流量比（生理食塩水／脂質溶液）=3、右：流量比=9）。デバイスの種類に関わらず、高流量条件、または流量比が大きくなるほど粒径が小さな脂質ナノ粒子が生成した。ミキサーがないデバイスでは、流量比3では100 nmの粒子が生成されず、標準偏差が大きくなった。一方で流量比9の場合は、粒径と標準偏差は小さくなったが、60 nm以下の粒子は生成できなかった。カオティックミキサーでは、ミキサーが深いほど同じ条件であっても小さな粒径の脂質ナノ粒子が生成した。これは、31 μm 深さのデバイスの方が、エタノールの希釈速度が速いためであると考えられる。図4にミキサーの深さとエタノールの希釈速度の関係を示す。この結果から、溶液が完全に混合するまでに必要な時間は、生成する粒子サイズに影響を与えないと考えられる。一方で、混合率が20%から40%に到達する時間が生成する粒子サイズに影響を与えることが示唆された。これは、エタノール濃度に換算すると60%~80%の範囲であり、エタノール濃度を60%以下に迅速に希釈することが粒径制御に重要であると考えられる。

今後の見通し

蛍光標識化脂質を用いた可視化実験とナノ粒子の形成挙動から、粒径制御に重要なエタノールの濃度範囲（60~80%）と希釈速度が明らかになった。これらの結果から、高流量条件で原料溶液をマイクロ流体デバイスに送液し、数十ミリ秒以内にエタノールを希釈できれば、溶液を完全に混合しなくても、より小さな脂質ナノ粒子を作製できると考えられる。したがって、カオティックミキサーよりも高流量条件での溶液混合に適したミキサー構造を開発すれば、脂質ナノ粒子をより精密に作製できると期待される。精密に粒径制御された脂質ナノ粒子は、次世代のDDSキャリア粒子として実用化が切望されている。今後は本研究に基づきカオティックミキサーに替わる新しい希釈機能を有したマイクロ流体デバイスを開発し、次世代のDDS用キャリア製造装置に応用していく予定である。

成果発表

1. M. Maeki, Y. Fujishima, Y. Sato, T. Yasui, N. Kaji, A. Ishida, H. Tani, Y. Baba, H. Harashima, M. Tokeshi, "Understanding the Formation Mechanism of Lipid Nanoparticles in Microfluidic Devices with Chaotic Micromixers" *PLOS ONE*, **12**, e0187962 (2017).

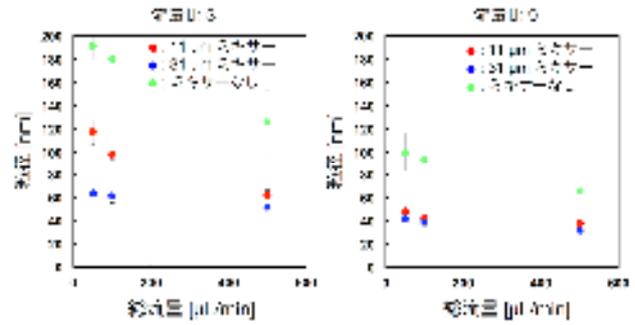


図3 ミキサーの深さが生成する粒径に与える影響

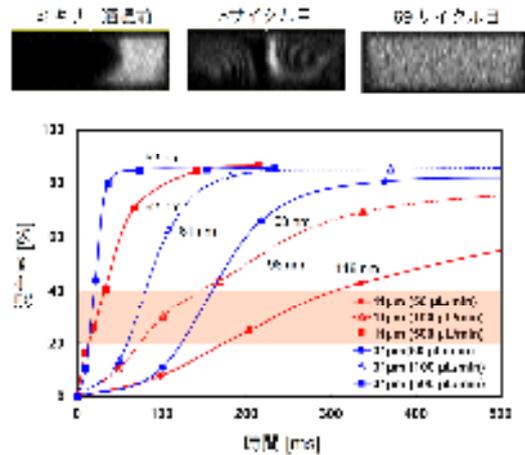


図4 (上) デバイス中での溶液混合
(下) 流量比3におけるミキサーの深さとエタノールの希釈速度の関係